



Origami2(DE3) 感受态细胞

Origami2(DE3) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1222

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZC1222-1	Origami2(DE3) 感受态细胞	10×100μl
<input type="checkbox"/> ZC1222-2	Origami2(DE3) 感受态细胞	20×100μl

备注: 以上包装均含有 Compcell Control Plasmid pUC19(0.1ng/μl) 5μl (质量控制用)。

储存: -70°C 保存六个月。

产品介绍:

本公司生产的 Origami2(DE3) 感受态细胞是采用特殊工艺处理得到的感受态细胞, 可用于 DNA 的化学转化。使用 pUC19 质粒检测, 转化效率高达 10^6 cfu/μg DNA 以上。

基因型为: $\Delta(\text{ara-leu})7697 \Delta\text{lacX74} \Delta\text{phoA PvuII phoR araD139 ahpC galE galK rpsL F}' [\text{lac+lacI}^q \text{ pro}] (\text{DE3}) \text{gor522::Tn10trxB} (\text{Str}^R, \text{Tet}^R)$

产品特点:

Origami 2系列菌株是K-12菌株衍生而来, 在thioredoxin reductase (trxB)和glutathione reductase (gor)基因上同时含有突变, 这使得该菌株能够更加高效的在细胞质内生成二硫键, 有助于含二硫键蛋白的活性蛋白形成。与Origami系列菌株相比, Origami 2系列菌株是硫酸链霉素、四环素敏感的, 这使得该菌株能够适用于大多数的蛋白表达质粒。Gor基因突变使得该菌株和原来的Origami(DE3)菌株一样具有四环素抗性。DE3是溶源性的λDE3, 所以在lacUV5启动子下携带有T7 RNA聚合酶的染色体拷贝。该菌株适用于pET系列载体, 及其他T7启动子系列载体。

Origami 2 (DE3)同时还是亮氨酸生长缺陷型宿主菌,可用于相关的克隆以及蛋白表达。

Origami 2 (DE3)可使用LB培养基在37°C有氧的条件下培养, 然后用30%甘油-80°C保藏菌种, 42°C热激可将质粒转入该菌株, 此菌株在IPTG的诱导下可进行蛋白表达。

操作步骤:

以下操作均按无菌条件的标准进行:

- **转化:**取感受态细胞置于冰浴中(解冻1-2分钟),加入目的DNA,轻轻混匀,在冰浴中放置30分钟。
注意:所使用DNA体积不要超过感受态细胞悬液体积的1/10,100μl感受态细胞能够被1ng超螺旋质粒DNA所饱和。
- **热激:**将离心管置于42°C水浴中放置60-90秒,然后快速将管转移到冰浴中,使细胞冷却2-3分钟,该过程不要摇动离心管。
- **复苏:**向每个离心管中加入500μl无菌的SOC或LB培养基(不含抗生素),混匀后置于37°C 180rpm 摇床振荡培养45-60分钟,目的是使质粒上相关的抗性标记基因表达,使菌体复苏。
- **涂板:**根据实验要求(质粒,重组连接产物转化),吸取适量体积已转化的感受态细胞加到含相应抗生素的SOC或LB固体琼脂培养基上,将细胞均匀涂开。将平板置于室温直至液体被吸收,倒置平板,37°C培养12-16小时。



提示：

- 刚刚化冻的细胞，转化效率最高。化冻后感受态细胞冰浴条件下，半小时内活性无明显变化，因此，同时转化多支感受态细胞时尽量半小时内加完目的 DNA。
- 感受态细胞应保存在 -70°C ，请避免反复冻融，以免降低感受态细胞的转化效率。
- 进行转化操作时，请在无菌条件下，根据相应温度要求进行实验。
- 避免用移液枪吹吸，整个过程要轻柔，尽量低温操作。
- 为防止转化实验不成功，可以保留部分连接反应液，以重新转化，将损失降到最低。
- 诱导时，IPTG 浓度可选 (0.1-2mM 均可)。
- 为获得需要量的蛋白，最佳诱导时间，温度，IPTG 浓度需实验者优化。
- **由于此感受态细胞转化效率较低；为了更好的实验效果，建议至少转入 100ng 以上质粒，取 1/3 以上复苏后菌液涂板；否则有可能转化失败。**

ZOMANBIO